



IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

Applicant: Andrea Piva et al.

Serial No.: 10/608,937

Filed: June 27, 2003

Title: COMPOSITION FOR USE IN ANIMAL NUTRITION COMPRISING A
CONTROLLED RELEASE LIPID MATRIX, METHOD FOR PREPARING
THE COMPOSITION AND METHOD FOR THE TREATMENT OF
MONOGASTRIC ANIMALS

Docket No.: 35826

LETTER

Commissioner for Patents
P.O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

Sir:

Enclosed is a certified copy of Italian Patent Application No. MI2002 A 001427; the priority of
which has been claimed in the above-identified application.

Respectfully submitted,

PEARNE & GORDON LLP

By John P. Murtaugh
John P. Murtaugh, Reg. No. 34226

526 Superior Avenue East
Suite 1200
Cleveland, Ohio 44114-1484
(216) 579-1700

Date: 7-31-03

I hereby certify that this correspondence is being deposited
with the United States Postal Service as first class mail in
an envelope addressed to: Commissioner for Patents,
P.O. Box 1450, Alexandria, VA 22313-1450 on the date
indicated below.

John P. Murtaugh

Name of Attorney for Applicant(s)

7-31-03

Date

John P. Murtaugh

Signature of Attorney



Ministero delle Attività Produttive
Direzione Generale per lo Sviluppo Produttivo e la Competitività
Ufficio Italiano Brevetti e Marchi
Ufficio G2

Autenticazione di copia di documenti relativi alla domanda di brevetto per: **Invenzione Industriale**
N. **MI2002 A 001427**



*Si dichiara che l'unita copia è conforme ai documenti originali
depositati con la domanda di brevetto sopraspecificata, i cui dati
risultano dall'accluso processo verbale di deposito.*

Roma, li **24 LUG. 2003**

per IL DIRIGENTE

Paola Giuliano

D.ssa Paola Giuliano

AL MINISTERO DELLE ATTIVITÀ PRODUTTIVE

UFFICIO ITALIANO BREVETTI E MARCHI - ROMA

DOMANDA DI BREVETTO PER INVENZIONE INDUSTRIALE, DEPOSITO RISERVE, ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO

MODULO A



A. RICHIEDENTE (I)

1) Denominazione **VETAGRO S.r.l.** SR
 Residenza **REGGIO EMILIA (RE)** codice **00976780353**
 2) Denominazione _____
 Residenza _____ codice _____

B. RAPPRESENTANTE DEL RICHIEDENTE PRESSO L'U.I.B.M.

cognome nome **Ing. Martino SALVADORI - Albo 438 BM et al.** cod. fiscale _____
 denominazione studio di appartenenza **BUGNION S.p.A.**
 via **Lancetti** n. **17** città **MILANO** cap. **20158** (prov) **MI**

C. DOMICILIO ELETTIVO destinatario

via _____ n. _____ città _____ cap. _____ (prov) _____

D. TITOLO

classe proposta (sez/cl/sci) _____ gruppo/sottogruppo _____

COMPOSIZIONE PER USO NELL'ALIMENTAZIONE ANIMALE COMPRENDENTE UNA MATRICE A RILASCIO CONTROLLATO, PROCEDIMENTO DI PREPARAZIONE E RELATIVO IMPIEGO.

ANTICIPATA ACCESSIBILITÀ AL PUBBLICO:

SI ☐ NO ☒

SE ISTANZA: DATA _____ N° PROTOCOLLO _____

E. INVENTORI DESIGNATI

1) **PIVA Andrea** cognome nome _____
 2) **TEDESCHI Maurizio** cognome nome _____

F. PRIORITÀ

nazione o organizzazione _____ tipo di priorità _____ numero di domanda _____ data di deposito _____ allegato S/R _____

1) _____
 2) _____

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data _____ N° Protocollo _____

G. CENTRO ABILITATO DI RACCOLTA CULTURE DI MICRORGANISMI, denominazione

H. ANNOTAZIONI SPECIALI



DOCUMENTAZIONE ALLEGATA

N. es.

Doc. 1) **2** **PROV** n. pag. **27** riassunto con disegno principale, descrizione e rivendicazioni (obbligatorio 1 esemplare)
 Doc. 2) **2** **PROV** n. tav. **04** disegno (obbligatorio se citato in descrizione, 1 esemplare)
 Doc. 3) **1** **RIS** lettera d'incarico, procura o riferimento procura generale
 Doc. 4) **1** **RIS** designazione inventore
 Doc. 5) **0** **RIS** documenti di priorità con traduzione in italiano
 Doc. 6) **0** **RIS** autorizzazione o atto di cessione
 Doc. 7) **0** nominativo completo del richiedente

SCIOGLIMENTO RISERVE

Data _____ N° Protocollo _____

confronta singole priorità

8) attestati di versamento, totale Euro

DUECENTONOVANTUNO/80

obbligatorio

COMPILATO IL **28/10/2002**

FIRMA DEL(I) RICHIEDENTE(I)

p.i. della VETAGRO S.R.L.

CONTINUA SI/NO **NO**

Ing. Martino SALVADORI - Albo 438 BM

DEL PRESENTE ATTO SI RICHIEDE COPIA AUTENTICA SI/NO

SI

CAMERA DI COMMERCIO IND. ART. E AGR. DI **MILANO** **MILANO**

codice **165**

VERBALE DI DEPOSITO

NUMERO DI DOMANDA

MI2002A 003427

Reg. A.

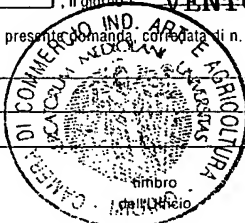
L'anno **DUEMILADUE**, il giorno **VENTOTTO**, del mese di **GIUGNO**

il(i) richiedente(i) sopraindicato(i) ha(hanno) presentato a me sottoscritto la presente domanda, corredata di n.

DD fogli aggiuntivi per la concessione del brevetto sopraindicato.

I. ANNOTAZIONI VARIE DELL'UFFICIALE ROGANTE

IL DEPOSITANTE



L'UFFICIALE ROGANTE

R. SGOGLIO

RIASSUNTO INVENZIONE CON DISEGNO PRINCIPALE, DESCRIZIONE E RIVENDICAZIONE

NUMERO DOMANDA **MI2002A 001427**

REG. A

DATA DI DEPOSITO **28/06/2002**

NUMERO BREVETTO

DATA DI RILASCIO

D. TITOLO

COMPOSIZIONE PER USO NELL'ALIMENTAZIONE ANIMALE COMPREDENTE UNA MATRICE A RILASCIO CONTROLLATO, PROCEDIMENTO DI PREPARAZIONE E RELATIVO IMPIEGO.

L. RIASSUNTO

La presente invenzione si riferisce ad una composizione per uso nell'alimentazione di animali monogastrici comprendente una matrice a rilascio controllato e ad un procedimento di preparazione di detta composizione. Inoltre, la presente invenzione si riferisce all'uso di detta composizione come supplemento di principi attivi quali ad esempio acidi organici e/o acidi inorganici per la conservazione e acidificazione degli alimenti destinati a monogastrici, ivi inclusi suini, ovini, conigli, avicoli, cavalli, animali da affezione ed esseri umani.

M. DISEGNO

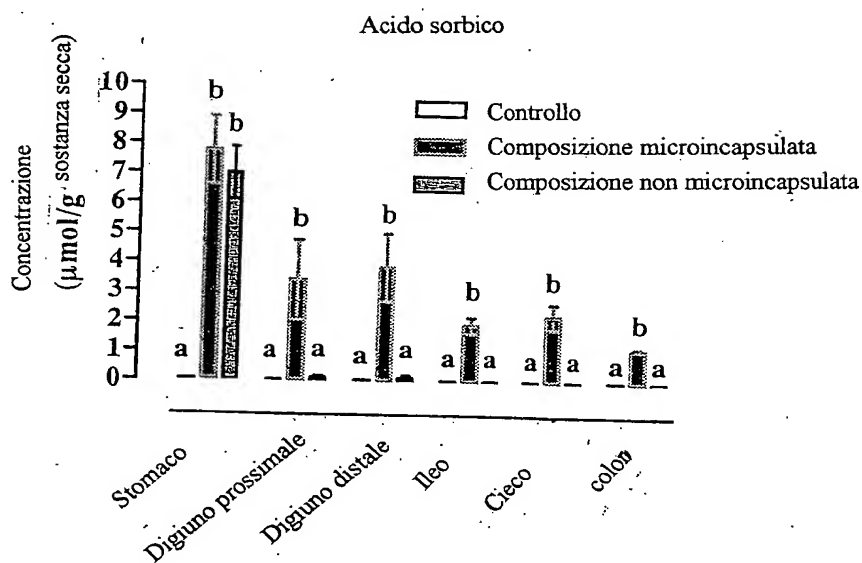


FIG.1





DESCRIZIONE

Annessa a domanda di brevetto per INVENZIONE INDUSTRIALE
avente per titolo **"COMPOSIZIONE PER USO
NELL'ALIMENTAZIONE ANIMALE COMPRENDENTE UNA
MATRICE A RILASCIO CONTROLLATO, PROCEDIMENTO DI
PREPARAZIONE E RELATIVO IMPIEGO"**.

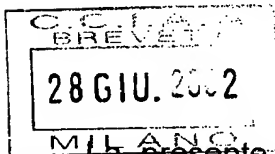
A nome: VETAGRO S.R.L., di nazionalità italiana residente a
REGGIO EMILIA

Inventori: Andrea Piva e Maurizio Tedeschi

Mandatari: Ing. Giuseppe Righetti iscritto all'Albo con il n. 7, Ing.
Carlo Raoul Ghioni iscritto all'Albo con il n. 280 BM, Ing.
Martino Salvadori iscritto all'Albo con il n. 438 BM,
Fabrizio Tansini iscritto all'Albo con il n. 697 BM, della
BUGNION S.p.A domiciliati presso quest'ultima in
MILANO – Viale Lancetti, 17.

Depositato il

AI N. MI 2002 A 0 0 1 4 2 7



DESCRIZIONE

La presente invenzione si riferisce ad una composizione per uso
nell'alimentazione animale comprendente una matrice a rilascio
controllato e ad un procedimento di preparazione di detta
composizione.

5 Inoltre, la presente invenzione si riferisce all'uso di detta
composizione come supplemento di principi attivi quali ad esempio
acidi organici e/o acidi inorganici per la conservazione e

acidificazione degli alimenti destinati a monogastrici, ivi inclusi suini, ovini, conigli, avicoli, cavalli, animali da affezione ed esseri umani.

E' noto che nel suino (come del resto anche in altre specie animali) vi è una scarsa secrezione gastrica di acido cloridrico nel neonato.

5 Il basso livello di acido cloridrico presente permette comunque la digestione delle proteine del latte mentre risulterebbe insufficiente per la completa digestione delle proteine di altra origine (per esempio di soia, di patata e di pesce).

10 Il suinetto ha quindi la capacità secretoria idonea ad una alimentazione latte, ma non sufficiente allorché le tecniche di allevamento e i protocolli alimentari prevedono svezzamenti precoci.

Nella fase di presvezzamento la fermentazione del lattosio presente nel latte da parte della flora autoctona rappresenta la maggiore difesa contro l'insediamento di microflora indesiderata.

15 Con lo svezzamento viene notevolmente ridotto l'apporto di lattosio e l'animale deve sviluppare altri meccanismi difensivi contrastanti la moltiplicazione di enterobatteri patogeni.

20 L'aumento della secrezione di acido cloridrico gastrico, che lentamente si instaura dopo lo svezzamento, crea un ambiente sfavorevole all'ingresso di microrganismi patogeni nel tratto intestinale.

E' noto anche che il valore del pH nell'apparato gastro-intestinale varia in funzione dello specifico tratto considerato.

25 Infatti, lo stomaco presenta un pH di 2,0-5,0; il duodeno presenta un valore di pH compreso da 4 a 6; il digiuno ha un pH compreso tra 6,0

e 7,0; il cieco presenta un valore di pH compreso tra 6,0 e 6,5; ed infine, il colon presenta un pH compreso tra 6,5 e 7,0.

E' noto l'effetto "barriera" dell'ambiente acido, a livello gastrico, come mezzo di difesa antibatterico al fine di limitare la proliferazione di batteri patogeni all'interno degli animali.

In generale, l'ambiente acido inibisce la crescita delle cellule batteriche e fungine ed alcuni particolari tipi di acidi sono anche in grado di contrastare la germinazione e la crescita di spore batteriche.

Tuttavia, può nascere una resistenza microbica agli acidi organici deboli che può coinvolgere vari meccanismi.

Per i batteri, esiste un'approfondita conoscenza sui loro meccanismi intrinseci di resistenza inducibile contro questi composti.

I conservanti possono entrare facilmente nelle cellule dei batteri gram-positivi la cui resistenza intrinseca è relativamente bassa per la maggioranza di essi. Un'eccezione è costituita dai batteri acido resistenti (ad esempio i produttori di acido lattico) i quali mantengono un'efficiente metabolismo anche a valori relativamente bassi di pH citoplasmatico, tollerando quindi l'accumulo all'interno della cellula degli acidi organici.

Nei batteri gram-negativi i meccanismi di resistenza sono più complicati.

Recentemente i meccanismi di resistenza inducibili nei microrganismi sono stati studiati in maniera più estensiva.

E' noto che le cellule batteriche incontrano molti fattori di potenziali stress nel loro naturale " habitat" come ad esempio un valore di pH

molto basso nello stomaco o, la presenza fisiologica di importanti quantità di acidi organici deboli (acidi grassi volatili) nell'intestino.

Effettivamente, alcuni organismi patogeni sono in grado di sviluppare una risposta di tolleranza agli acidi che consiste in un sistema di difesa complesso che permette alle cellule di sopravvivere ad abbassamenti di pH fino a valori di 3. Inoltre, è stata osservata anche l'insorgenza di una risposta di tolleranza agli acidi organici deboli dopo l'esposizione ad un valore di pH minore di 3.

Tale situazione può verificarsi comportando tra l'altro un aumento della patogenicità (dose minima infettante) di alcune enterobacteriacee.

Inoltre, alcuni batteri, come ad esempio *Salmonella typhimurium*, possono sviluppare una risposta di tolleranza agli acidi a pH 3 dopo una precedente esposizione ad un acido debole a pH 5.

Pertanto rimane la necessità di poter disporre di una composizione in grado di contrastare lo sviluppo e la proliferazione di batteri e funghi patogeni negli alimenti e nell'apparato gastro-intestinale degli animali. In particolare, rimane la necessità di poter disporre di una composizione per uso nell'alimentazione di animali monogastrici comprendente una matrice a rilascio controllato ed una selezionata miscela di principi attivi in grado di contrastare lo sviluppo della microflora indesiderata negli alimenti.

Inoltre, rimane la necessità di poter disporre di una composizione per uso zootecnico e veterinario comprendente una matrice a rilascio controllato ed una selezionata miscela di principi attivi in grado di



modulare il microbismo intestinale allo scopo di contrastare la proliferazione della microflora intestinale indesiderata negli animali.

Scopo principale della presente invenzione è quello di fornire una composizione per uso nell'alimentazione di animali monogastrici comprendente una matrice a rilascio controllato ed una miscela selezionata di principi attivi.

Un altro scopo ancora della presente invenzione è quello di fornire un procedimento per la preparazione di detta composizione.

Un ulteriore scopo della presente invenzione è quello di fornire una particolare matrice in grado di veicolare e rilasciare, in maniera controllata, i componenti della miscela selezionata di principi attivi all'interno del tratto gastro-intestinale degli animali ivi inclusi gli esseri umani.

Infine, un ulteriore scopo ancora della presente invenzione è quello di fornire l'uso di una matrice in grado di veicolare e rilasciare una selezionata miscela di principi attivi per la preparazione di una composizione per il trattamento del dismicrobismo intestinale.

Questi scopi ed altri ancora che risulteranno chiari nella descrizione dettagliata che segue sono stati raggiunti dalla Richiedente la quale ha trovato utile preparare una composizione per uso nell'alimentazione di animali monogastrici.

Forma un primo oggetto della presente invenzione una composizione per uso nell'alimentazione di animali monogastrici comprendente una matrice lipidica a rilascio controllato ed una miscela di principi attivi, le cui caratteristiche sono riportate nelle unite rivendicazioni.

Preferibilmente, la composizione oggetto della presente invenzione è in forma microincapsulata.

Vantaggiosamente, la composizione oggetto della presente invenzione presenta un ampio spettro di azione nel modulare il metabolismo batterico nel mangime e nel rilasciare i principi attivi nel tratto gastro-intestinale degli animali. Inoltre, la composizione, dell'invenzione presenta un'attività costante nel tempo che continua anche dopo l'ingestione dell'alimento da parte dell'animale.

Forma un altro oggetto della presente invenzione un procedimento per la preparazione di detta composizione, le cui caratteristiche sono riportate nell'unitè rivendicazioni.

La Richiedente ha perfezionato una particolare matrice lipidica a lento rilascio.

La matrice lipidica, oggetto della presente invenzione, comprende trigliceridi vegetali.

La matrice lipidica comprende trigliceridi vegetali idrogenati.

La matrice lipidica, oggetto della presente invenzione, comprende trigliceridi animali o miscele degli stessi.

I trigliceridi vegetali idrogenati sono scelti dal gruppo: olio di palma, olio di girasole, olio di mais, olio di colza, olio di arachide ed olio di soia.

Alternativamente, possono essere impiegate miscele di trigliceridi idrogenati in proporzioni variabili tra i singoli componenti.

I trigliceridi di origine animale sono scelti tra: sego bovino e strutto suino.

La matrice comprende inoltre particolari additivi. Gli additivi sono scelti dal gruppo: silice pirogenica (fumed silica) , calcio stearato, magnesio stearato, calcio solfato.

Gli additivi impiegati consentono di aumentare la viscosità della matrice stessa e di ridurre la sua permeabilità.

Preferibilmente, la matrice lipidica comprende gli additivi da 0,1 a 30 % in peso rispetto al peso totale della matrice lipidica; ad esempio da 1 a 20 %.

La matrice lipidica a rilascio controllato, oggetto della presente invenzione, nella quale viene dispersa una particolare miscela di principi attivi per la preparazione di una composizione per uso zootecnico e veterinario, presenta alcuni vantaggi.

Un primo vantaggio è dato dal fatto che si hanno migliori proprietà reologiche in quanto si ottiene una stabilità funzionale alla pressione a cui verrà sottoposta detta composizione durante l'impiego della stessa nella preparazione di premiscele o mangimi complementari o mangimi finiti.

Le proprietà di rilascio dei principi attivi sono ottimizzate in quanto la dissoluzione della matrice nei vari tratti gastro-intestinali avviene gradualmente.

Infatti, in seguito all'attacco delle secrezioni digestive la matrice, l'oggetto della presente invenzione consente di ottenere un lento e graduale rilascio dei principi attivi in funzione del tempo.

Ad esempio, un procedimento per la preparazione della matrice a rilascio controllato prevede che in un contenitore munito di mezzi di

riscaldamento e mezzi di mescolamento viene inserita la matrice lipidica. Successivamente, la temperatura del contenitore viene portata ad una temperatura compresa da 80 a 120 °C, mantenendo la matrice in agitazione, sino a quando la matrice è allo stato fuso.

5 Successivamente, alla matrice fusa vengono addizionati gli additivi. L'agitazione e la temperatura vengono mantenute fino ad ottenere una miscela omogenea. Eventualmente, a questo stadio si può procedere all'addizione degli emulsionanti a detta miscela omogenea.

La Richiedente ha perfezionato una composizione microincapsulata.

10 La composizione si presenta nella forma fisica di sferule del diametro compreso da 100 a 2000 micron in cui in ciascuna sferula i principi attivi sono inglobati nella matrice e, quindi, separati dall'esterno.

La composizione comprende una matrice a rilascio controllato nella quale viene dispersa una selezionata miscela di principi attivi.

15 In una realizzazione preferita, oggetto della presente invenzione, la miscela di principi attivi è una miscela di acidi organici, acidi inorganici e/o i loro relativi sali.

In un'altra realizzazione preferita, oggetto della presente invenzione, la miscela di principi attivi è una miscela di acidi organici, acidi inorganici e/o i loro relativi sali ed una miscela di sostanze aromatizzanti naturali o naturali identiche.

20 In un'altra realizzazione preferita, oggetto della presente invenzione, la miscela di principi attivi è una miscela di acidi organici, acidi inorganici e/o i loro relativi sali, una miscela di sostanze aromatizzanti naturali o naturali identiche e/o farmaci, quali antibiotici.

25



Le sostanze aromatizzanti naturali o naturali identiche sono scelte, ad esempio, tra le miscele di erbe ed estratti da piante, oleoresine, oli essenziali o (generally recognized as safe - GRAS) aromi e fragranze come additivi naturali. Tra questi l'aglio (*Allium sativum*), origano e i principali componenti dei suoi oli essenziali tra cui il carvacrolo, p-cimene, e γ -terpinene. Gli oli essenziali sono ricchi di composti aromatici estratti da piante tramite differenti processi quali distillazione con acqua o vapore, estrazioni con solventi o supercritica. Possono essere distillati dai fiori, semi, foglie, o radici o dalla pianta intera.

Quando viene effettuata una estrazione e concentrazione di questi prodotti particolare attenzione deve essere posta in relazione alla purezza della pianta oggetto di estrazione al fine di evitare di estrarre e concentrare anche micotossine prodotte da funghi epifitici o alcaloidi di piante che possano nuocere alla salute animale.

La composizione chimica degli oli essenziali può essere estremamente complessa, includendo terpenoidi, acidi fenolici, e flavonoidi con proprietà antiossidanti o antimicrobiche. I flavonoidi possono anche avere ruolo di agenti chelanti di metalli, come rame e ferro, che sono noti agenti pro-ossidanti.

Altri esempi sono la salvia, il rosmarino, la vaniglia.

Oltre all'impiego di aromatizzanti naturali si può ricorrere a sostanze natural-identiche che, per il loro grado di purezza, consentono una maggiore costanza di formulazione.

La microincapsulazione di queste sostanze consente di limitare la

perdita delle componenti più volatili durante la preparazione e lo stoccaggio degli alimenti e consente inoltre di modulare il rilascio di fragranze e aromi per fornire all'animale oltre ad un alimento stabilizzato e appetibile nel tempo, il rilascio lento di questi aromi nel tratto gastro-intestinale.

La miscela di sostanze aromatizzanti naturali o natural identiche 5% è presente in una quantità compresa da 1 a 50 % in peso rispetto al peso totale della composizione finale; preferibilmente da 5 a 15 % in peso.

Preferibilmente, la miscela di acidi può contenere, in aggiunta, altri componenti nutrizionali fisiologicamente utili per gli animali.

Preferibilmente, la composizione comprende la matrice a rilascio controllato in una quantità compresa da 40 a 70 % in peso rispetto al peso totale della composizione.

Preferibilmente, la composizione comprende la miscela di acidi organici e/o inorganici in una quantità compresa da 30 a 60 % in peso rispetto al peso totale della composizione.

La miscela di acidi comprende acidi organici ed inorganici scelti dal gruppo consistente di: acido formico, acido lattico, acido citrico, acido fumarico, acido malico, acido sorbico, acido ortofosforico.

Preferibilmente, l'acido formico è compreso nella miscela di acidi in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso; preferibilmente da 5 a 15 % in peso; e sali ad esempio formiato di calcio da 5 a 35 % in peso.

Preferibilmente, l'acido lattico (assorbito su gel di silice al 50 %) è

compreso nella miscela di acidi in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso; preferibilmente da 5 a 15 % in peso.

Preferibilmente, l'acido citrico è compreso nella miscela di acidi in una quantità compresa da 0,1 a 60 % in peso; preferibilmente da 5 a 15 % in peso.

Preferibilmente, l'acido fumarico è compreso nella miscela di acidi in una quantità compresa da 0,1 a 60 % in peso; preferibilmente da 5 a 20 % in peso.

Preferibilmente, l'acido malico è compreso nella miscela di acidi in una quantità compresa da 0,1 a 60 % in peso; preferibilmente da 5 a 15 % in peso.

Preferibilmente, l'acido sorbico è compreso nella miscela di acidi in una quantità compresa da 0,1 a 60 % in peso; preferibilmente da 5 a 20 % in peso; e sali ad esempio sorbato di potassio da 5 a 20 % in peso.

Preferibilmente, l'acido ortofosforico (assorbito su gel di silice al 60 %) è compreso nella miscela di acidi in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso.

Di seguito sono riportati a titolo esemplificativo e, pertanto non limitativo, di alcune composizioni della presente invenzione.

1. Acido formico 12,5, acido lattico 37,5 % e 50 % di matrice.
2. Acido citrico 10 %, acido fumarico 20 %, acido malico 10 %, acido sorbico 1 %, acido ortofosforico 15 % e 44 % di matrice.
3. Acido citrico 8 %, acido malico 8 %, acido fumarico 18 %, acido sorbico 10 %, acido ortofosforico 8 %, miscela di sostanze

aromatizzanti naturali e/o naturali identiche 4 % e 44 % di matrice.

4. Calcio formiato 35%, acido fumarico 10%, acido sorbico 10% e 45 % di matrice.
5. Calcio formiato 14%, calcio propionato 7%, acido fumarico 23%, potassio sorbato 5% e 51 % di matrice.
6. Calcio formiato 32%, calcio propionato 5%, potassio sorbato 8%, miscela di sostanze aromatizzanti naturali e/o naturali identiche 5% e 50 % di matrice.
7. Acido fumarico 20 %, acido malico 10 %, acido citrico 10 %, acido ortofosforico 10 % e 50 % di matrice.
8. Calcio formiato 34 %, calcio propionato 1 % e potassio sorbato 15 % e 50 % di matrice.

La composizione, oggetto della presente invenzione, presenta i alcuni vantaggi.

Si ha il vantaggio di avere un lento rilascio delle sostanze disperse nella matrice a livello del tratto gastro-intestinale delle varie specie animali alle quali sono destinate.

La sperimentazione ha mostrato che non si ha un rilascio immediato a livello gastrico in seguito alla variazione di pH (per valori di pH molto acidi) quanto invece un rilascio progressivo a livello del digiuno in seguito all'azione degli enzimi digestivi.

Forma un altro oggetto della presente invenzione un procedimento per la preparazione della composizione comprendente una matrice a rilascio controllato nel quale alla matrice preparata come sopra descritto vengono addizionati i principi attivi. Il tutto viene



omogeneizzato a temperatura compresa da 55 a 70 °C. Successivamente, la sospensione viene spruzzata in camera fredda a temperatura inferiore a 15 °C.

5 Forma un ulteriore oggetto della presente invenzione l'impiego di detta composizione come tale, o nella preparazione di mangimi e/o premiscele, per uso in campo zootecnico e veterinario per l'alimentazione di avicoli, suini e vitelli giovani (con il rumine non funzionante).

10 In pratica, la composizione dell'invenzione è in grado di proteggere e veicolare i principi attivi in essa dispersi. Ad esempio, tra i principi attivi sono compresi i farmaci, quali: antibiotici, vaccini, antiinfiammatori ed antistaminici.

Detti principi attivi e/o farmaci vengono rilasciati a livello intestinali.

15 In una realizzazione preferita, viene indicato l'impiego di detta composizione comprendente farmaci per prevenire e/o curare patologie in allevamenti intensivi.

Parte sperimentale

20 L'obiettivo dello studio è stato quello di verificare in vivo l'efficacia della protezione della composizione comprendente una matrice a rilascio controllato, sulla dinamica della liberazione delle molecole protette ad esempio acido sorbico ed olii essenziali nei diversi tratti dell'apparato tratto gastro-intestinale; contestualmente di controllare le possibili interferenze delle molecole liberate sull'andamento delle fermentazioni operate dai microrganismi presenti.

25 Il controllo sul contenuto raccolto dai diversi tratti dell'apparato

gastro-intestinale ha consentito di evidenziare la presenza delle molecole in esame fornite in forma microincapsulata (acido sorbico ed oli essenziali) in concentrazioni progressivamente decrescenti dallo stomaco al colon per l'acido sorbico e al digiuno per gli oli essenziali.

L'acido sorbico subisce una riduzione della concentrazione dal digiuno prossimale per permanere fino al colon, mentre l'effetto della protezione per l'olio essenziale è evidente fin al digiuno distale.

La medesima formulazione contenente acido sorbico ed oli essenziali fornita in forma non microincapsulata non ha consentito la rilevazione delle molecole sopra indicate oltre il piloro.

La tipologia di protezione adottata determina un preciso effetto cronoideo in quanto risulta efficace per modificare la disponibilità, nei vari tratti gastro-intestinali controllati, delle molecole protette, acido sorbico e olio essenziale. L'andamento delle fermentazioni è chiaramente influenzato dai trattamenti.

Lo schema sperimentale adottato è stato il seguente:

1. Tesi di controllo: soggetti alimentati con una dieta convenzionale senza nessuna aggiunta di farmaci, o delle sostanze oggetto dello studio. Al termine del periodo sperimentale cinque soggetti, con un peso vivo pari alla media del gruppo di appartenenza, sono stati individuati per gli abbattimenti. Dagli animali, appena abbattuti, sono stati prelevati diversi tratti gastrointestinali (stomaco, digiuno prossimale e digiuno distale, ileo, cieco, colon a livello del sigma).

2. Tesi trattata con una composizione microincapsulata a lento rilascio, oggetto della presente invenzione: soggetti alimentati con una dieta convenzionale, analoga per composizione alla tesi di controllo, additivata in ragione dello 0,5% nel periodo di 0-15 giorni di prova. Al termine del periodo sperimentale i cinque soggetti, con un peso vivo pari alla media del gruppo di appartenenza, sono stati individuati per gli abbattimenti. Dagli animali appena abbattuti sono stati prelevati diversi tratti gastrointestinali (stomaco, digiuno prossimale e digiuno distale, ileo, cieco, colon a livello del sigma)

3. Tesi trattata con una miscela (non microincapsulata) che riproduce la composizione oggetto della presente invenzione: soggetti alimentati con una dieta convenzionale analoga per composizione alla tesi di controllo, additivati in ragione dello 0.5% nel periodo di 0-15 giorni di prova. Al termine del periodo sperimentale cinque soggetti, con un peso vivo pari alla media del gruppo di appartenenza sono stati individuati per gli abbattimenti. Agli animali, appena abbattuti sono stati prelevati diversi tratti gastrointestinali (stomaco, digiuno prossimale, digiuno distale, ileo, cieco, colon a livello del sigma).

Nell'arco di tutto il periodo sperimentale gli animali sono stati alimentati *ad libitum* e avevano libero accesso all'acqua di bevanda.

Analisi

Gli analisi degli alimenti per animali sono state effettuate in accordo con quanto riportato nella raccolta di metodiche analitiche per

alimenti ad uso zootecnico.

Sui contenuti gastrointestinali sono state compiute la determinazione dell'umidità, degli acidi grassi volatili, dell'ammoniaca, dell'olio essenziale e dell'acido sorbico.

5 L'analisi dell'umidità è stata effettuata in stufa termoriscaldata a 80°C fino a peso costante del campione (circa 20 ore). Gli analisi degli acidi grassi ed i volatili sono state effettuate secondo la metodica riportata da Fussel R.J. e Mc Cailey D.V.(Analist, 112, 1213-1216; 1987). Le analisi per la determinazione dell'olio essenziale e
10 dell'acido sorbico sono state effettuate secondo le seguenti metodiche:

Operare a riparo da luce diretta.

Pesare in provetta da centrifuga 50 g. di campione, aggiungere 5 ml di acido tricloroacetico al 5 %, centrifugare per 10 min. a 11000 RPM
15 a 4 °C, quindi filtrare su filtro di carta.

Trasferire 20 ml. di filtrato in provettone Kjedahl da distillazione, aggiungere 10 ml di HCl 3 N, distillare in corrente di vapore per 12 min. e misurare il volume del distillato. Filtrare circa un ml. del
20 distillato con filtri a 0,45 micron e iniettare 30 µl in HPLC.

Colonna RP-18 (Merck) miscela eluente H₂O: CH₃OH= 75:25 a flusso
1 ml/min, rivelatore UV 1575 (Jasco) a 245 nanometri; uscita picco
circa 7.4 min. Il limite di rilevabilità per l'acido sorbico: 0.05 mg./Kg.
riferito al campione iniziale. Recovery 96.1 ± 2.4%. Tutti i dati raccolti
nel corso della sperimentazione sono stati elaborati statisticamente.

25 E' stata effettuata un'analisi della varianza secondo la procedura



Anova con il test di Wartler e con il post-test di Newman-Kuls. Le differenze sono state considerate significative a $P < 0.05$.

Risultati

Valutazione dei dati analitici relativi ai controlli del contenuto gastro-intestinale delle diverse tesi.

La presenza dell'acido sorbico risulta assente nei campioni prelevati dalla tesi controllo, mentre la sua presenza è rilevabile nei vari tratti gastro-intestinali della tesi trattata con la composizione, oggetto della presente invenzione, e con la miscela che riproduce la composizione (non microincapsulata), oggetto della presente invenzione.

Il tenore di acido sorbico è elevato nei campioni di stomaco con valori simili fra le tesi trattata con la composizione, oggetto della presente invenzione, e con la miscela che riproduce la composizione (non microincapsulata), oggetto della presente invenzione, vi è invece una notevole differenziazione a partire dal primo tratto dell'intestino (digiuno prossimale).

Per la tesi trattata con la composizione, oggetto della presente invenzione, il tenore di acido sorbico decresce molto lentamente nei vari tratti intestinali ed è ancora presente nel colon a livello contenuto; in quelli della tesi trattata con la miscela che riproduce la composizione (non microincapsulata), oggetto della presente invenzione l'acido sorbico risulta essere presente in piccole quantità solo nel primo tratto dell'intestino (digiuno prossimale). La presenza di olio essenziale è stata riscontrata in misura significativa e con poca variabilità nei campioni di stomaco della tesi trattata con la

composizione, oggetto della presente invenzione, e con la miscela che riproduce la composizione (non microincapsulata), oggetto della presente invenzione, mentre risulta assente in tutti i campioni dei soggetti appartenenti alla tesi di controllo.

5 Nella tesi trattata con la composizione, oggetto della presente invenzione, la presenza di olio essenziale è riscontrabile nel digiuno prossimale e distale per poi risultare assente nei successivi tratti intestinali. Nella tesi trattata con la miscela che riproduce la composizione (non microincapsulata), oggetto della presente
10 invenzione, l'olio essenziale è invece presente solamente nei campioni prelevati dallo stomaco (concentrazioni simili a quelli della tesi trattata con la composizione, oggetto della presente invenzione).

Conclusioni della sperimentazione

15 La tipologia di protezione adottata determina un preciso effetto cronoideo in quanto risulta efficace nel modificare la rilevabilità analitica, quindi la disponibilità, nei vari tratti gastro-intestinali controllati, e le molecole protette, soprattutto acido sorbico e olio essenziale.

20 La conseguenza è una influenza sull'andamento dei processi fermentativi da parte dei microrganismi che si trovano nei differenti tratti dell'apparato gastro-intestinale.

Tabella 1: caratteristiche analitiche delle diete a confronto nel periodo 0-15 giorni (dati in percentuale della sostanza secca);

		Controllo	Comp. Microincap- sulata	Comp. NON Microincap- sulata
Sostanza secca	%	90,49	90,59	90,47
Protidi grezzi	%	18,32	17,94	18,27
Lipidi grezzi	%	6,61	6,69	6,49
Fibra grezza	%	3,81	4,03	3,01
Ceneri	%	6,66	6,59	6,76
Amido	%	45,64	44,40	44,46
Energia Digeribile ¹	kcal/Kg	3848	3846	3854
Energia Netta ²	Kcal/Kg	2755	2755	2753

¹- Secondo Whittemore (1980); ²- Secondo Noblet (1994)

Figura 1: concentrazione di acido sorbico micromoli/grammi sostanza secca in funzione dei vari tratti gastro-intestinali;

Figura 2: concentrazione di olio essenziale nanomoli/grammo sostanza secca in funzione di vari tratti gastro-intestinali;

Figura 3: concentrazione di batteri lattici in digiuno espressa come log CFU/g feci in funzione delle tre tesi impiegate;

Figura 4: concentrazione di batteri lattici in cieco espressa come log CFU/g feci in funzione delle tre tesi impiegate;

Figura 5: concentrazione di *Coli spp.* in digiuno espressa come log CFU/g feci in funzione delle tre tesi impiegate;

Figura 6: concentrazione di *Coli spp.* in cieco espressa come log CFU/g feci in funzione delle tre tesi impiegate;

Figura 7: andamento del pH in funzione dei vari tratti gastro-intestinali

delle tre tesi impiegate; e

Figura 8: concentrazione di acido lattico espressa come nanomoli/grammo sostanza secca in funzione dei vari tratti gastro-intestinali.



RIVENDICAZIONI

1. Una composizione per uso nell'alimentazione di animali monogastrici comprendente una matrice lipidica a rilascio controllato ed una miscela di principi attivi; detti principi attivi sono scelti tra
5 almeno un componente appartenente al gruppo comprendente:

- acidi organici;
- sali di acidi organici;
- acidi inorganici;
- sali di acidi inorganici;
- 10 - sostanze aromatizzanti naturali e/o naturali identiche.

2. La composizione secondo la rivendicazione 1, caratterizzata dal fatto che detta matrice lipidica comprende trigliceridi vegetali o trigliceridi animali o miscele degli stessi.

3. La composizione secondo la rivendicazione 2, caratterizzata dal fatto che detti trigliceridi vegetali sono idrogenati; preferibilmente
15 sono scelti dal gruppo: olio di palma, olio di girasole, olio di mais, olio di colza, olio di arachide ed olio di soia.

4. La composizione secondo la rivendicazione 2, caratterizzata dal fatto che detti trigliceridi animali sono scelti tra sego bovino e/o strutto
20 suino.

5. La composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti da 1 a 4, caratterizzata dal fatto di comprendere inoltre almeno un additivo scelto tra: silice pirogenica, calcio stearato magnesio stearato e calcio solfato.

25 6. La composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni

precedenti da 1 a 6, caratterizzata dal fatto che detta composizione è microincapsulata e si presenta nella forma fisica di sferule del diametro compreso da 100 a 2000 micron; in dette sferule i principi attivi sono inglobati nella matrice e separati dall'esterno.

5 7. La composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzata dal fatto che detto acido inorganico è l'acido ortofosforico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso, rispetto al peso della composizione.

10 8. La composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzata dal fatto che detto acido organico è scelto tra:

- acido formico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso, rispetto al peso della composizione;

15 - acido lattico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso, rispetto al peso della composizione;

- acido citrico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 60 % in peso, rispetto al peso della composizione;

- acido fumarico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 60 % in peso, rispetto al peso della composizione;

20 - acido malico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso, rispetto al peso della composizione;

- acido sorbico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 60 % in peso, rispetto al peso della composizione.

25 9. La composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzata dal fatto che detti sali di acidi organici sono

scelti tra:

- formiato di calcio; preferibilmente in una quantità compresa da 5 a 35 % in peso, rispetto al peso della composizione;
- sorbato di potassio; preferibilmente in una quantità compresa da 5 a 20 % in peso, rispetto al peso della composizione.

10. La composizione secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti, caratterizzata dal fatto che dette sostanze aromatizzanti naturali e/o naturali identiche sono scelte tra: le miscele di erbe, estratti da piante, oleoresine, oli essenziali, aromi e fragranze naturali.

11. Un procedimento per la preparazione di una composizione secondo una o più delle rivendicazioni da 1 a 10 comprendente le seguenti fasi di:

- predisporre una matrice lipidica allo stato fuso in un contenitore;
- aggiungere a detta matrice lipidica uno o più additivi scelti tra: silice pirogenica, calcio stearato magnesio stearato e calcio solfato fino ad ottenere una massa omogenea;
- disperdere in detta massa omogenea almeno un componente appartenente al gruppo comprendente: acidi organici, sali di acidi organici, acidi inorganici, sali di acidi inorganici e sostanze aromatizzanti naturali e/o naturali identiche; e
- spruzzare in camera fredda la massa ottenuta dalla fase precedente.

12. Il procedimento secondo la rivendicazione 11, caratterizzato dal fatto che detta matrice lipidica allo stato fuso è mantenuta in

agitazione ad una temperatura compresa da 80 a 120 °C.

13. Il procedimento secondo la rivendicazione 11, caratterizzato dal fatto che detti componenti vengono dispersi in detta massa omogenea la quale viene mantenuta sotto agitazione ad una temperatura compresa da 55 a 70 °C.

14. Il procedimento secondo una qualsiasi delle rivendicazioni da 11 a 13, caratterizzato dal fatto che la camera fredda è ad una temperatura inferiore a 15 °C.

15. Il procedimento secondo una o più delle rivendicazioni da 11 a 14, caratterizzata dal fatto che detta matrice lipidica comprende trigliceridi vegetali o trigliceridi animali o miscele degli stessi.

16. Il procedimento secondo la rivendicazione 15, caratterizzata dal fatto che detti trigliceridi vegetali sono idrogenati; preferibilmente sono scelti dal gruppo: olio di palma, olio di girasole, olio di mais, olio di colza, olio di arachide ed olio di soia.

17. Il procedimento secondo la rivendicazione 15, caratterizzata dal fatto che detti trigliceridi animali sono scelti tra sego bovino e/o suino.

18. Il procedimento secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti da 11 a 17, caratterizzata dal fatto che detta composizione è ottenuta in forma microincapsulata e si presenta nella forma fisica di sferule del diametro compreso da 100 a 2000 micron; in dette sferule i principi attivi sono inglobati nella matrice e separati dall'esterno.

19. Il procedimento secondo una qualsiasi delle rivendicazioni



precedenti da 11 a 18, caratterizzata dal fatto che detto acido inorganico è l'acido ortofosforico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso, rispetto al peso della composizione.

20. Il procedimento secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti da 11 a 19, caratterizzata dal fatto che detto acido organico è scelto tra:

- acido formico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso, rispetto al peso della composizione;
- acido lattico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso, rispetto al peso della composizione;
- acido citrico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 60 % in peso, rispetto al peso della composizione;
- acido fumarico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 60 % in peso, rispetto al peso della composizione;
- acido malico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 50 % in peso, rispetto al peso della composizione;
- acido sorbico; preferibilmente in una quantità compresa da 0,1 a 60 % in peso, rispetto al peso della composizione.

21. Il procedimento secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti da 11 a 20, caratterizzata dal fatto che detti sali di acidi organici sono scelti tra:

- formiato di calcio; preferibilmente in una quantità compresa da 5 a 35 % in peso, rispetto al peso della composizione;
- sorbato di potassio; preferibilmente in una quantità compresa da 5 a 20 % in peso, rispetto al peso della composizione.

22. Il procedimento secondo una qualsiasi delle rivendicazioni precedenti da 11 a 21, caratterizzata dal fatto che dette sostanze aromatizzanti naturali e/o naturali identiche sono scelte tra: le miscele di erbe, estratti da piante, oleoresine, oli essenziali, aromi e fragranze naturali.

23. Uso della composizione secondo almeno una delle rivendicazioni da 1 a 10 per ridurre o contrastare lo sviluppo e/o la proliferazione di batteri e funghi patogeni nei mangimi e/o nelle premiscele destinate all'alimentazione di animali monogastrici.

24. Uso della composizione secondo almeno una delle rivendicazioni da 1 a 10 per la preparazione di un alimento destinato all'alimentazione in campo zootecnico e veterinario per ridurre o contrastare lo sviluppo e/o la proliferazione di batteri e funghi patogeni nell'apparato gastro-resistente degli animali.

25. Uso della composizione secondo almeno una delle rivendicazioni da 1 a 10 per la preparazione di un alimento destinato all'alimentazione di animali monogastrici in grado di modulare il microbismo intestinale per contrastare la proliferazione della microflora intestinale indesiderata negli animali.

p.i. della VETAGRO S.R.L.

IL MANDATARIO
Ing. Martino SALVADORI
iscritto all'Albo con il n. 438



Acido sorbico

MI 2002 A 001427

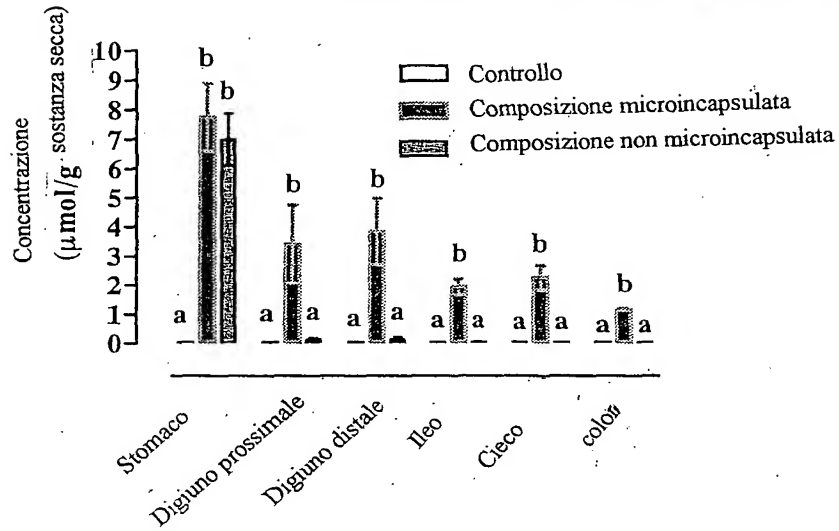


FIG.1

Olio essenziale

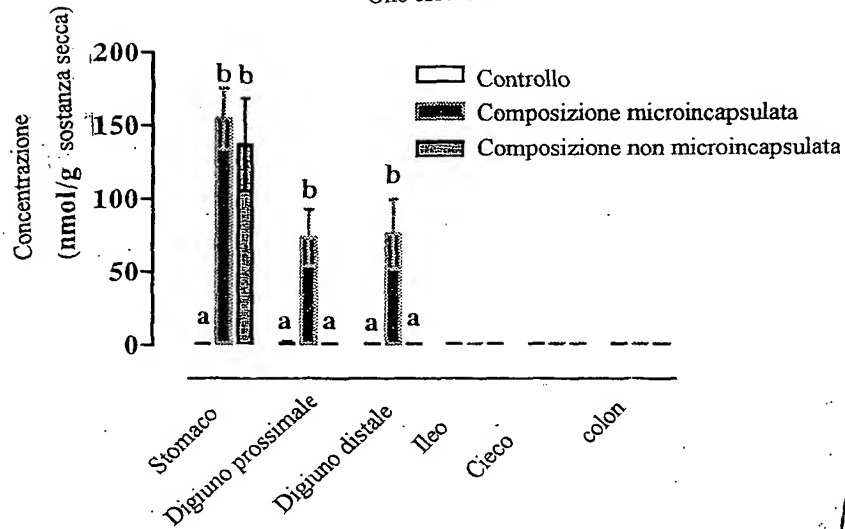
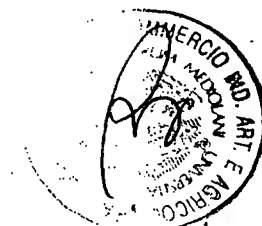


FIG. 2

p.i. della VETAGRO S.R.L. - TAV. N. 1



IL MANDATARIO
Ing. Martino SALVADORI
Iscritto all'Alb c n II n. 438

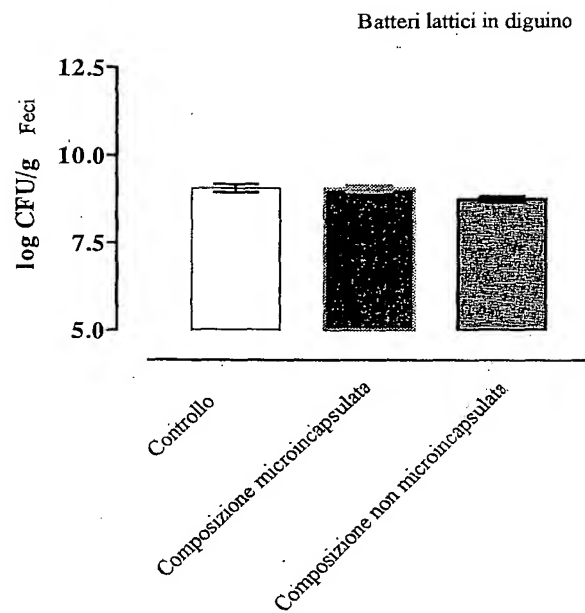
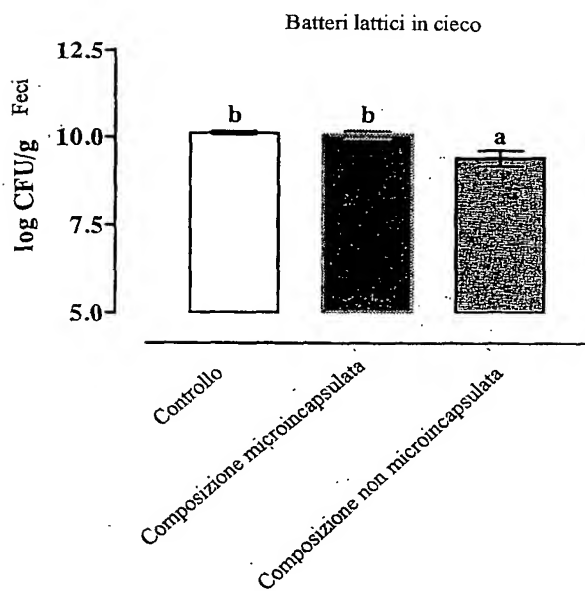


FIG. 3



MI 2002 A 001427

FIG. 4



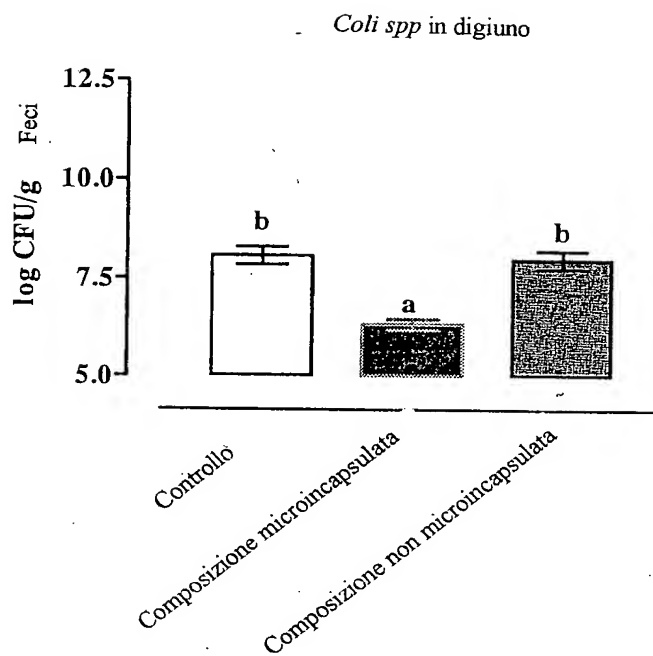


FIG. 5

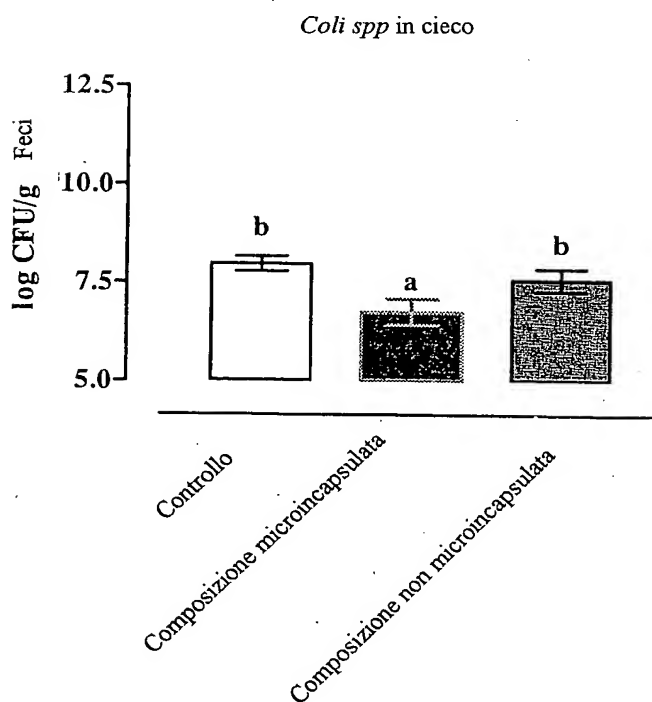
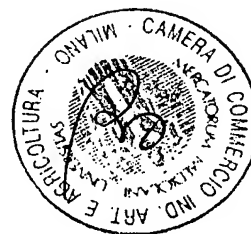


FIG. 6

MI 2002 A 001427



p.i. della VETAGRO S.R.L. - TAV. N. 3

IL MANDATARIO
 Ing. Martino SALVADORI
 Iscritto all'Albo con il n. 438

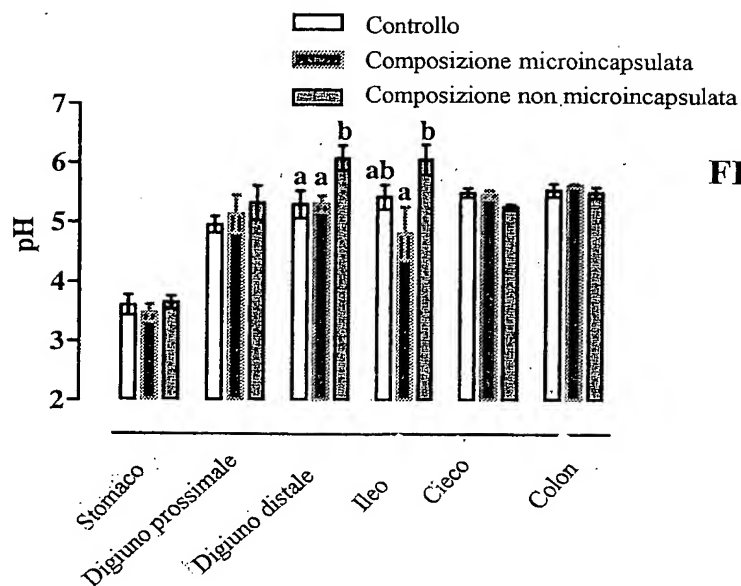


FIG. 7

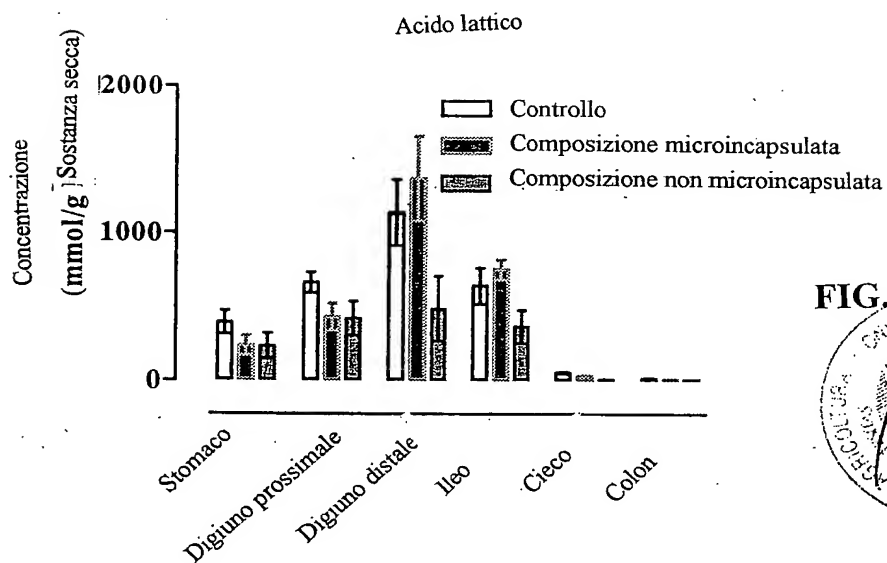


FIG. 8

MI 2002 A 001427

p.i. della VETAGRO S.R.L. - TAV. N. 4

IL MANDATARIO
Ing. Martino SALVADORI
Iscritto all'Alb con il n. 438